

BEST AVAILABLE COPY

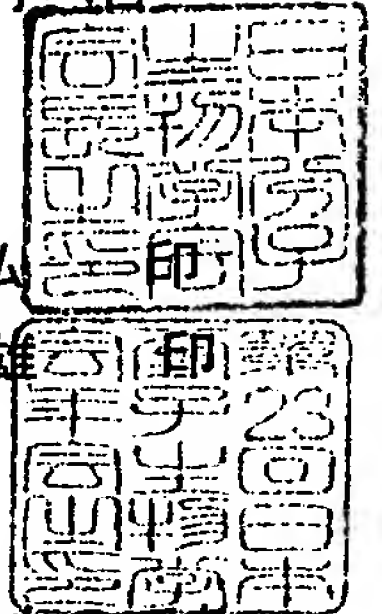
証 明 書

平成13年3月2日

特許庁長官 殿

日本分子生物学会 会長
第23回日本分子生物学会年会 年会長

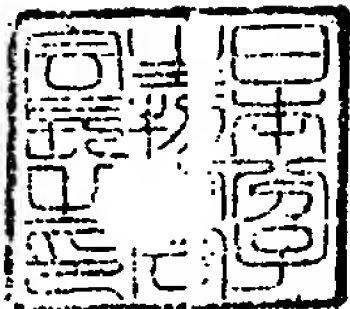
柳田 充弘
杉野 明雄



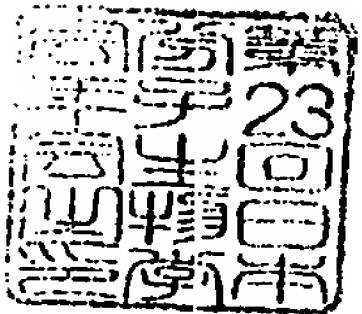
添付の文章は、第23回日本分子生物学会年会において、下記の通り発表されたものであることを証明いたします。

記

講演日 : 平成12年12月16日
講演場所 : 神戸国際展示場 PA会場
演題番号 : 4PA-069
演題 : 「構造ゲノム科学のためのタンパク質ドメイン選択法」
発表者名 : 関英子、木川隆則、松田夏子、林崎良英、横山茂之



以上



第23回日本分子生物学会年会

プログラム・講演要旨集

会 期：2000年12月13日(水)～16日(土)

会 場：神戸国際展示場，神戸国際会議場
および 神戸ポートピアホテル

| | |
|--------------------------------|------|
| 第23回年会の開催にあたって | i |
| 年会参加者へのお知らせ | ii |
| 日 程 表 | iv |
| 交通のご案内 | vi |
| 会場周辺案内図 | vii |
| 会場案内図 | viii |
| ポスター発表日程表 | xi |
| ポスターセッションパネル配置図 | xii |
| シンポジウム日程 | xiv |
| ワークショップ日程 | xv |
| 年会組織委員会委員名簿 | xvi |
| 年会プログラム | 1 |
| 岡崎令治メモリアルレクチャー プログラム・要旨 | 1 |
| サテライトシンポジウム「DNA組換え」プログラム | 223 |
| シンポジウム要旨 | 227 |
| ワークショップ要旨 | 257 |
| ポスター発表要旨 | 313 |
| バイオテクノロジーセミナー要旨 | 819 |
| 人名索引 | 843 |
| 賛助会員・賛助社芳名 | 871 |
| 機器・試薬・書籍等展示会出品会社一覧 | 873 |
| 広告掲載会社一覧 | 874 |
| 広 告 | 875 |

編集・発行 平成12年11月25日

第23回 日本分子生物学会年会組織委員会

(連絡先) (財) 学会センター関西 内
〒560-0082 豊中市新千里東町1-4-2
千里ライフサイエンスセンタービル14階
TEL (06) 6873-2301 FAX (06) 6873-2300

4PA-065 メダカ b 遺伝子のポジショナルクローニング

○深町 昌司¹, 島田 敦子², 嶋 昭紘¹ (1 東大・新領域・先端生命, 2 東大・院理・生物科学)

4PA-066 ブタ BAC クローンの末端配列を利用したマーカーの RH マップ

○木内 幸子, 上西 博英, 美川 智, 安江 博 (農水省・畜試)

4PA-067 無細胞タンパク質合成系を用いたマウス cDNA の多検体同時発現

○元田 容子¹, 矢吹 孝¹, 松田 夏子¹, 林崎 良英², 木川 隆則^{1,3}, 横山 茂之^{1,3,4} (1 理研・GSC・タンパク質 G, 2 GSC・遺伝子 G, 3 細胞情報伝達, 4 東大・院理)

4PA-068 PCR と無細胞タンパク質合成系を用いた, 迅速なタンパク質ドメインの発現法

○矢吹 孝¹, 元田 容子¹, 松田 夏子¹, 黒田 裕¹, 松尾 洋², 林崎 良英³, 木川 隆則¹, 横山 茂之¹ (1 理研・GSC・タンパク質 G, 2 ゲノム情報 G, 3 遺伝子 G)

4PA-069 構造ゲノム科学のためのタンパク質ドメイン選択法

○関 英子¹, 木川 隆則^{1,2}, 松田 夏子¹, 林崎 良英³, 横山 茂之^{1,2,4} (1 理研・GSC・タンパク質 G, 2 細胞情報伝達, 3 GSC・遺伝子 G, 4 東大・院理)

4PA-070 無細胞系による高度好熱菌 *T. th* HB8 タンパク質の発現

○田島 夏織¹, 白水 美香子^{1,2,4}, 井上 みお¹, 矢吹 孝¹, 木川 隆則^{1,2}, 柴田 武彦^{3,4}, 井上 頼直⁴, 倉光 成紀^{4,5}, 横山 茂之^{1,2,4} (1 理研・GSC・タンパク質 G, 2 理研・細胞情報伝達, 3 理研・遺伝生化学, 4 理研・ストラクチャー・クローム G, 5 阪大・院理)

4PA-071 ゲノムワイドな多型マイクロサテライトマーカーの設定

○牧野 悟士¹, 岡本 浩一^{1,2}, 林 英樹¹, 徳保 江里子¹, 渡辺 裕美^{1,2}, 遠藤 高帆³, 今西 規³, 五條 堀 孝³, 田宮 元¹, 猪飼 英俊¹ (1 東海大・医・分子生命科学 2, 2 中外製薬・富士御殿場研, 3 遺伝研・生命情報)

4PA-072 HLA-DLSR 遺伝子の多型について

○田島 真理子¹, 中野 恭子¹, 中河 志朗², 太田 成男³, 松田 貞幸⁴ (1 鹿児島女子短大・生化, 2 鹿児島大・医・解剖学, 3 日本医科大・老研・生化, 4 鹿屋体育大・生物)

4PA-073 老化解析計画はいかなる終末を迎えるか?

○木田 大輔 (理研・筑波研究所・ジーンバンク)

(6a 高次生命現象, 免疫)

4PA-074 CD97 と自然免疫と適応免疫のクロストーク

○大野 龍一, 松島 網治¹, Kathleen Kelly² (1 東大・院医・分子予防医学/科技団 CREST, 2 NCI, NIH, USA)

4PA-075 造血系遺伝子 *mel-18* による末梢 T 細胞の機能発現と機能分化の制御

○木村 元子, 谷岡 克, 古関 明彦, 中山 俊憲 (千葉大院・医・免疫発生)

4PA-076 新しいグロブリン調節因子による T 細胞分化制御機構

○田中 裕一郎 (千葉大・医・分子免疫)

4PA-077 WASP/PAWHT ドメインを過剰発現するトランスジェニックマウスにおける T 細胞の機能解析

○佐藤 隆一, 池田 典雄, 後藤 英夫¹, 山下 慶三², 橋本 幸一², 多度津 紀子², 橋本 易周³, 関川 賢二¹ (1 農水省・畜試・ブクソウエルカム KK 筑波研, 2 北大・先端研)

4PA-078 CD69 の T 細胞分化における役割

○中山 俊憲 (千葉大院・医・免疫発生)

4PA-079 ホルモン T 細胞サブセット特異的サイトカイン遺伝子群の発現制御機構

○高武 昌幸¹, 鈴木 直文¹, 鴨川 由美子¹, 新井 直子², 新井 賢一¹ (1 東大・医科研・染色体制御, 2 DNAX 研究所)

4PA-080 Human Herpesvirus 6 レセプター CD46 の解析

○柳井 望^{1,2}, 谷岡 光恵², 松本 美佐子², 伊勢川 裕二³, 瀬谷 司^{1,2} (1 奈良先端大・バイオ, 2 大阪府成人病センター・免疫, 大阪大院医・感染因子防御)

4PA-081 HA 抗原発現バキス回動ウイルス接種免疫マウスのインフルエンザウイルス感染防御効果

○阿部 隆之, 高橋 仁, 高井 和幸, 高久 洋 (千葉工大 ハイテクリサーチセンター)

4PA-067

無細胞タンパク質合成系を用いたマウスcDNAの多検体同時発現
 ○元田 容子¹, 矢吹 孝¹, 松田 夏子¹, 林崎 良英², 木川 隆則^{1,3,4}, 横山 茂之^{1,3,4}
 (理研・GSC・タンパク質G, ²GSC・遺伝子G, ³細胞情報伝達, ⁴東大・院理)
 High-throughput expression of mouse cDNA using cell-free protein synthesis
 Ohta Y., Motoda T., Yabuki K., N. Matsuda¹, Y. Hayashizaki², T. Kigawa^{1,3}, S. Yokoyama^{1,3,4}
 (RIKEN, Protein G., GSC, ²Genome Expl. G., GSC, ³Cell. Signal. Lab., ⁴Grad. Sch. of Sci., Univ. of Tokyo)

タンパク質の基本構造の立体構造および機能を解明することを目的として、我々は、PCRと無細胞タンパク質合成系を用いて、多数の遺伝子からタンパク質合成を迅速に行う系の構築を行っている。その系を用いて96穴プレート上で多検体同時にHis-tagもしくはGST融合タンパク質として、マウス由来のcDNAの発現を行った。その結果、His-tag融合体として10~200 µg/ml、GST融合体として10~600 µg/mlの合成量を得た。また、上記の方法で発現したタンパク質の合成量の定量は、RIを用いて行っているが、取り扱いのしやすさや簡便性などの点からHis-tag、GSTの抗体を用いて免疫学的手法で定量する系の構築も行った。発現したタンパク質を、ELISA法では、直接96穴プレートに吸着させ、Dot blot法では一度アセトン沈殿してから膜にブロットし、標識物質が結合した抗体を用いて直接法で検出することにより、比較的短時間でRIでの定量値とほぼ近い値を出すことができた。以上により多数の遺伝子を同時に簡便に発現、定量することが可能になった。

4PA-068

PCRと無細胞タンパク質合成系を用いた、迅速なタンパク質ドメインの発現
 ○元田 容子¹, 松田 夏子¹, 黒田 裕¹, 松尾 洋², 林崎 良英³, 木川 隆則¹, 横山 茂之^{1,3,4}
 (理研・GSC・タンパク質G, ²ゲノム情報G, ³遺伝子G)
 High-throughput production of protein fragments using PCR and cell-free synthesis
 Ohta Y., Motoda T., N. Matsuda¹, Y. Kuroda¹, Y. Matsuo², Y. Hayashizaki³, T. Kigawa¹, S. Yokoyama¹
 (Protein G., GSC, RIKEN, ²Bioinformatics G., ³Genome Exploration G.)

約1000種あるといわれるタンパク質の基本構造について、その機能の解明を目指している。そのためには目的のドメインを含むタンパク質断片を多種発現し、構造解析に適した断片をスクリーニングする必要がある。そこで、PCRと無細胞タンパク質合成系を用いて、任意のタンパク質断片をGST-tag等任意の融合タンパク質として高収量かつ迅速に合成する系を構築した。まず、PCRを用いて任意の鋳型DNAより、発現したタンパク質断片に特異的なプライマーを用いて任意の部分配列を切り出し、GST融合タンパク質の発現を行った。マウス由来の遺伝子ライブラリより40個の部分配列についてGST融合タンパク質を発現し、500 µg/mlの合成量を得た。すべての反応は96穴プレート上で行い、タンパク質の合成量までの全操作は1日でおこなうことができる。この方法は、タンパク質構造解析に適したタンパク質断片の迅速な発現をはじめ、タンパク質の機能部位の特定など広く応用でき

4PA-069

タンパク質ドメイン選択法
 ○元田 容子¹, 松田 夏子¹, 林崎 良英², 横山 茂之^{1,2,4}
 (理研・GSC・タンパク質G, ²GSC・細胞情報伝達, ³GSC・遺伝子G, ⁴東大・院理)
 Main screening system for structural genomics
 Ohta Y., Motoda T., N. Matsuda¹, Y. Hayashizaki², S. Yokoyama^{1,2,4}
 (Protein G., GSC, ²Cell. Sig. Lab., ³Genome Expl. G., GSC, ⁴Grad. Sch. of Sci., Univ. of Tokyo)

タンパク質の立体構造の基本的な構成単位である基本構造を、体系的に解析を進めている。このためには、可溶性が高く、構造解析に適したタンパク質断片を、高速に、実験的に選択する手法が重要である。我々は、PCRと無細胞タンパク質合成系を用いて、任意のタンパク質断片をGST-tag等任意の融合タンパク質として高収量かつ迅速に合成する系を構築した。まず1段階目として、cDNAライブラリより任意の部分配列を切り出し、GST融合タンパク質の発現を行った。次に2段階目として、選ばれたタンパク質断片の発現型、GFPの蛍光強度を指標に絞り込みを行う。この方法により、多数のクローンを対象にした簡便かつ迅速なタンパク質断片の選択が可能になった。この手法を適用したところ、His-tag融合体の可溶性は、特に第2段階において極めてよく、構造解析に適したタンパク質断片の選択が可能になった。この方法により、タンパク質断片の選択が効率よく行われることが出来ると考え、この手法を、タンパク質断片のcDNAに適用し、可溶性の高いタンパク質断片の選択が可能になった。

4PA-070

無細胞系による高度好熱菌 *T. th* HB8 タンパク質の発現
 ○田島 夏織¹, 白水 美香子^{1,2,4}, 井上 みお¹, 矢吹 孝¹, 木川 隆則^{1,2}, 柴田 武彦^{3,4}, 井上 頼直⁴, 倉光 成紀^{4,5}, 横山 茂之^{1,2,4}
 (理研・GSC・タンパク質G, ²理研・細胞情報伝達, ³理研・遺伝生化学, ⁴理研・ストラクチャーG, ⁵阪大・院理)
 Cell-free expression of proteins from *Thermus thermophilus* HB8
 Ota N., M. SHIROUZI^{1,2,4}, M. INOUE¹, T. YABUKI¹, T. KIGAWA^{1,2}, T. SHIBATA^{3,4}, Y. INOUE⁴, S. KURAMITSU^{4,5}, S. YOKOYAMA^{1,2,4}
 (Protein G., GSC, RIKEN, ²Cell. Signal. Lab., RIKEN, ³Cell. and Mol. Biol. Lab., RIKEN, ⁴Structurome G., RIKEN, ⁵Grad. Sch. of Sci., Osaka Univ.)

我々は高度好熱菌 *T. th* HB8 の約2000種類と予測される全タンパク質の立体構造・機能解析を目指している。無細胞タンパク質合成系は、迅速かつ多種類のタンパク質調製や、X線結晶構造解析で重要な役割を果たすMAD法のための重原子標識された試料調製に適している。そこで今回、無細胞系を用いて高度好熱菌タンパク質の発現を試みた。合成はPCR産物を鋳型として、96穴プレート上で行った。100種類のうち48種類で十分な合成量が得られた。さらにMAD法を目的として反応溶液中のメチオニンをセレノメチオニンで置換した場合でも、合成量に大きな変化はみられなかった。また大腸菌における目的タンパク質の発現と比較すると、無細胞系でのみ発現するものも得られた。このように、無細胞タンパク質合成系は高度好熱菌タンパク質の構造・機能解析の有効な手段となり得ることが示された。

4PA-071

ゲノムワイドな多型マイクロサテライトマーカーの設定
 ○牧野 悟士¹, 岡本 浩一^{1,2}, 林 英樹¹, 徳保 江里子¹, 渡辺 裕美^{1,2}, 遠藤 高帆³, 今西 規³, 五條 幸³, 田宮 元³, 猪子 英俊¹
 (東海大・医・分子生命科学2, ²中外製薬・富士御殿場研, ³遺伝研・生命情報)
 Genome-wide setting of polymorphic microsatellite markers.
 Satoshi Makino¹, Koichi Okamoto^{1,2}, Hideki Hayashi¹, Eriko Tokubo¹, Hiromi Watanabe^{1,2}, Takaho Endo³, Tadashi Imanishi³, Takashi Gojobori³, Gen Tamiya¹, Hidetoshi Inoko¹
 (Dept. of Mol. Life Sci., Tokai Univ. Sch. of Med., ²Fuji-Gotemba Res. Labs, Chugai pharm. Co. Ltd., ³Cent. Inf. Biol., Natl. Inst. Genetics)

本研究は、疾患等のヒト表現型を規定する種々の遺伝子を同定するためのツールとして、ゲノムワイドに30,000個の多型マイクロサテライトマーカーを収集することを目的としている。我々のこれまでの解析から、マイクロサテライトマーカーは平均して100~200kb以上の範囲で疾患対立遺伝子との連鎖不平衡を維持し得ると期待されている。従って30,000個のマイクロサテライトマーカーを用いて解像度100kbの高密度な遺伝的地図を得ることは、複合性疾患関連遺伝子の同定における現状を変革する基盤となるであろう。30,000個のマイクロサテライトマーカーを設定するために、まず、すでに公共のデータベースに登録済みのマーカー約10,000個について、日本人集団における標準多型を検索した。その結果、全体の90%以上のマーカーについて日本人集団においても多型を有することが明らかになった。残りの20,000個については、我々のグループで新規にヒトゲノムドラフト配列からマイクロサテライトを検索し、同様に多型の有無を調べることによって設定を進めている。以上の結果を併せて、ゲノムワイドな相関解析を可能とするマイクロサテライトマーカーセットとして報告したい。

4PA-072

ヒトDLST遺伝子の多型について
 ○田邊 真理子¹, 中野 恭子¹, 中河 志朗², 太田 成男³, 松田 貞幸⁴
 (1 鹿児島女子短大・生化学, 2 鹿児島大・医学部・解剖1, 3 日本医科大・老研・生化学, 4 鹿児島大・生物)
 Polymorphism of the human DLST gene
 O Mariko TANABE¹, Kyoko NAKANO¹, Siro NAKAGAWA², Shigeo OHTA³, Sadayuki MATUDA⁴
 (1 Dept. Biochem. Kagoshima Women's junior Coll., 2 Dept. Anat. Sch. of Med. Kagoshima Univ., 3 Dept. Biochem. and Cell Biol. Inst. of Gero. Nippon Med. Sch., 4 Dept. Biol. and Health Sci. Kanoya Natl. Inst. of Fitness and Sports)

ジヒドロリポアミド・スクシニル転移酵素 (DLST) はミトコンドリアに存在するα-ケトグルタル酸脱水素酵素複合体のコアを構成する成分酵素である。ヒト・DLST遺伝子は15のエキソンと14のイントロンから構成され、約2.3 kbpの長さであり、染色体14q24.2-24.3に座位していることを我々は明らかにした。今回はヒト・DLST遺伝子の多型を調べることを目的とする。DLST遺伝子のすべてのエキソンを含む領域の多型の検出はSSCP解析 (single-strand conformation polymorphism analysis) と塩基配列決定で行った。その結果、エキソン8の塩基番号11044 (A or G)、イントロン10の16439 (A or G)、イントロン13の19117 (A or G) エキソン14の19183 (A or G) に多型の存在が確認された。その解析結果、このDLST遺伝子には (A-G-A-T, アレルAT)、(A-G-A-C, アレルAC) と (G-A-G-C, アレルGC) の三つのアレルが存在する。即ち、このDLST遺伝子は6種類のgenotypeに分類される。ヒト・DLST遺伝子の分布を調べた結果、AT、ACとGCのhaplotype はそれぞれ26.7%、22.7%と50.6%であり、GCのhaplotypeを保持しているヒトが多いことが判明した。

CERTIFICATE

March 21, Heisei 13-nen (2001)

To: Director-General of the Patent Office

The Molecular Biology Society of Japan
President : Mitsuhiro Yanagida
23rd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan
President: Akio Sugino

This is to certify that the attached text has been disclosed as in the following at 23rd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan.

Date of the presentation: December 16, 2000

Place of the presentation: Kobe International Exhibition Hall, Room PA

Subject number : 4PA-069

Subject : Protein domain screening system for structural genomics

Presenters : Eiko Seki, Takanori Kigawa, Natsuko Matsuda, Yoshihide Hayashizaki, Shigeyuki Yokoyama

23rd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan
Program and Abstract of presentations

Period: December 13, (Wednesday) to December 16 (Saturday) 2000

Places: Kobe International Exhibition Hall,
International Conference Center Kobe, and Kobe Portopia Hotel

Edit and Issue: November 25, 2000

23rd Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan Secretariat

(Correspondence)

In Gakkai center Kansai
Senri Life Science Center Building 14th floor
1-4-2 Higashi-cho, Sinsenri Toyonaka 560-0082
TEL (06) 6873-2301 Fax (06) 6873-2300

The fourth day (Dec.16 (Saturday))

4PA-069 Protein domain screening system for structural genomics
Eiko Seki¹, Takanori Kigawa^{1,2}, Natsuko Matsuda¹, Yoshihide
Hayashizaki³, Shigeyuki Yokoyama^{1,2,4} (¹RIKEN, Protein G., GSC,
²Cell. Sig. Lab, ³Genome Expl. G., GSC, ⁴Grad. Sch. of Sci., Univ. of
Tokyo)

4PA-069

Protein domain screening system for structural genomics

Eiko Seki¹, Takanori Kigawa^{1,2}, Natsuko Matsuda¹, Yoshihide Hayashizaki³, Shigeyuki Yokoyama^{1,2,4} (¹RIKEN, Protein G., GSC, ²Cell. Sig. Lab, ³Genome Expl. G., GSC, ⁴Grad. Sch. of Sci., Univ. of Tokyo)

We are pursuing a research to study systematically the folds, basic units of protein three-dimensional structure. For this purpose, it is important to screen highly soluble and suitable protein domains for structural analyses, rapidly and experimentally. As a first step, a cDNA library was randomly fragmented, GFP-fusion proteins of the fragments were expressed in *E. coli*, and fluorescing clones were selected. Next, as the 2nd step, those selected clones were expressed in cell free system, and screened on the basis of the intensity of GFP fluorescence. Because PCR products can be used directly as templates for expression, it is easy to process many samples simultaneously, and further to add various expression tags. Therefore, by using cell free system, easy and rapid analysis of many clones are available. We verified this screening system with mouse growth factor receptor-binding protein 2 (Grb2). The GFP fluorescence in the 2nd step screening was correlated with the solubility of deleted fragments. Thus, by using this system, we could screen protein domains suitable for structural analyses efficiently, from several ten thousands of libraries of various proteins. We are now applying this system to several cDNAs and screening highly soluble protein domains.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.